

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
20. November 2003 (20.11.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/094983 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61L 15/42**,
15/32, A61K 38/48, C12N 9/74

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/04680

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. Mai 2003 (05.05.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 20 030.0 8. Mai 2002 (08.05.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **RHEINISCH-WESTFÄLISCHE TECHNISCHE
HOCHSCHULE AACHEN (RWTH)** [DE/DE]; Temp-
lergraben 55, 52062 Aachen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) **Erfinder/Anmelder (nur für US): GERHARDS, Frank**
[DE/DE]; Hans Boeckler Alle 97, 52074 Aachen (DE).
PEREIRA-PAZ, Rui-Miguel [PT/DE]; Hasselholzer
Weg 13, 52074 Aachen (DE). **KLEE, Doris** [DE/DE];
Universitätsklinikum Aachen, Pauwelsstr. 30, 52074
Aachen (DE). **HÖCKER, Hartwig** [DE/DE]; Universit-
ätsklinikum Aachen, Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen (DE).

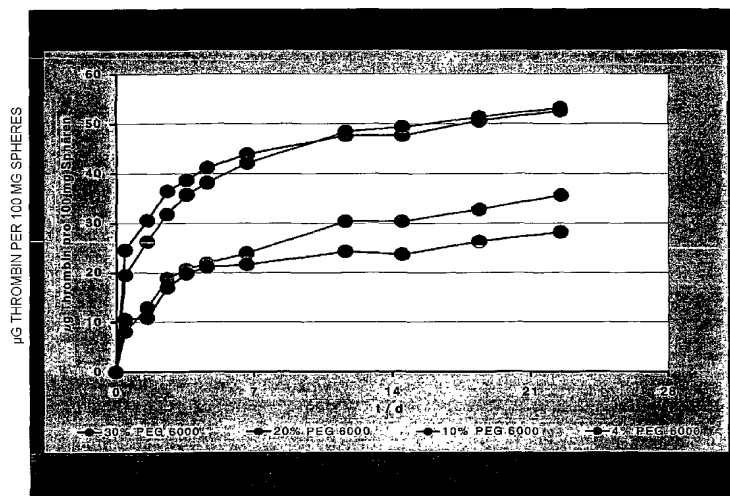
(74) **Anwalt: VOSSIUS & PARTNER**; Siebertstr. 4, 81675
München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten (national):** AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO,
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) **Title:** RESORBABLE PHARMACEUTICAL FORMULATION FOR THE CONTINUOUS RELEASE OF THROMBIN

(54) **Bezeichnung:** RESORBIERBARE PHARMAZEUTISCHE FORMULIERUNG ZUR KONTINUIERLICHEN THROMBIN-
FREISETZUNG



Beispiel einer zeitabhängigen kumulativen Thrombinfreisetzung in µg pro 100 mg
Sphären aus Polylactid-co-glycolid Mikrosphären bei 37°C in PBS.

EXAMPLE OF A TIME-DEPENDENT CUMULATIVE RELEASE OF THROMBIN IN µg PER 100
MG SPHERES OF POLYLACTIDE CO-GLYCOLIDE MICROSPHERES AT 37° IN PBS.

(57) **Abstract:** The invention relates to resorbable pharmaceutical formulations for the continuous local release of thrombin. The thrombin is embedded in resorbable polymer spheres which are incorporated in a collagen sponge. The inventive formulation provides a resorbable haemostatic for using in surgery, especially dental surgery, in dentoalveolar operations.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



WO 03/094983 A1



(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft resorbierbare pharmazeutische Formulierungen zur kontinuierlichen lokalen Thrombinfreisetzung. Das Thrombin ist in resorbierbaren Sphären aus Polymer eingebettet, wobei die Sphären in einem Kollagenschwamm inkorporiert sind. Die erfindungsgemäße Formulierung stellt ein resorbierbares Hämostyptikum zur Anwendung in der Chirurgie, insbesondere der Zahnchirurgie bei dentoalveolären Eingriffen bereit.

RESORBIERBARE PHARMAZEUTISCHE FORMULIERUNG ZUR KONTINUIERLICHEN
THROMBINFREISETZUNG

Die vorliegende Erfindung betrifft eine resorbierbare pharmazeutische Formulierung zur kontinuierlichen lokalen Thrombinfreisetzung umfassend Thrombin welches in resorbierbaren Sphären aus Polymeren eingebettet ist, wobei die Sphären in einem Kollagenschwamm inkorporiert sind. Die erfindungsgemäße Formulierung stellt ein resorbierbares Hämostyptikum zur Anwendung in der Chirurgie, insbesondere der Zahnchirurgie/ bei dento alveolären Eingriffen bereit.

Auf Grund verschiedenster Erkrankungen nimmt die Anzahl der Patienten die einer therapeutischen Blutgerinnungshemmung (Antikoagulation) bedürfen zu. Hierzu gehören zum Beispiel Patienten mit künstlichen Herzklappenprothesen oder Patienten die einen Schlaganfall oder eine Venenthrombose hatten.

Die therapeutisch induzierte Blutgerinnungshemmung wird fast ausnahmslos durch die tägliche orale Gabe von Vitamin K – Antagonisten (Cumarin Derivate wie z.B. Phenprocoumon in Form von Marcumar[®], bzw. Falithrom[®] oder Coumadin Derivate in Form von Warfarin[®]) erreicht. Durch die Hemmung der Blutgerinnung sind bereits kleine chirurgische Eingriffe, wie z.B. Zahnextraktionen, mit einem hohen Blutungsrisiko verbunden. Aus diesem Grund werden die betreffenden Patienten in der Regel unter kostenintensiven stationären Bedingungen behandelt. Hierbei wird die orale Dauerantikoagulation durch die intravenöse Gabe von Heparin, daß ebenfalls für eine Hemmung der Blutgerinnung sorgt, ersetzt. Heparin verfügt jedoch über eine deutlich kürzere Halbwertszeit wodurch bei Eintreten von Blutungskomplikationen eine bessere Steuerbarkeit der Gerinnungshemmung möglich ist ohne auf den erforderlichen Thromboseschutz zu verzichten. Neben diesen, therapeutisch induzierten Formen der Blutgerinnungshemmung, werden postoperative Nachblutungen auch durch das Plasminsystem, mitbedingt. Das Plasminsystem, der physiologische Antagonist des Blutgerinnungssystems, sorgt auf systemischer Ebene für eine Auflösung von

Blutgerinnnseln. Diese Funktion ist jedoch bei einer erhöhten postoperativen Blutungsgefahr nicht erwünscht.

Neben den oben genannten Indikationen existieren noch weitere Patientengruppen welche aufgrund einer angeborenen Störung des Blutgerinnungssystems wie z.B. Protein C, Protein S oder Antithrombinmangel einer therapeutischen Antikoagulation mit Vitamin K Antagonisten bedürfen, aber auch ein angeborener Faktorenmangel wie z.B. Hämophilie A oder B, oder das von-Willebrand-Jürgens-Syndrom oder einem isolierter Faktorenmangel innerhalb des Prothrombinkomplexes können selbst bei kleinen, lokalen Eingriffen zu erheblichen Nachblutungen führen. Um Nachblutungsereignisse nach Zahnextraktionen oder zahnärztlichen – chirurgischen Eingriffen zu vermeiden, ohne den erforderlichen Thromboseschutz zu gefährden, haben sich folgende, dem „Stand der Technik“ entsprechende Vorgehensweisen etabliert. Jedoch ist es auch mit diesen beiden Therapieregimen nicht möglich Nachblutungen zu verhindern:

- I.) Umsetzen der oralen Dauerantokoagulation durch Vitamin K – Antagonisten auf eine intravenöse Dauerheparinisierung im sogenannten therapeutischen Bereich (PTT 2-3 Fache des Normbereichs). Auf Grund der relativ kurzen Wirkdauer/Halbwertszeit von Heparin sollen Nachblutungen, deren Ursache durch die Heparinantikoagulation mitbedingt sind (PTT über 80 sec) durch Reduzierung der Heparingabe beherrscht werden. Eine therapeutische Heparinisierung zum Schutz vor thrombembolischen Komplikationen ist dann jedoch häufig nicht mehr gegeben (PTT < 2 facher Norm). Zudem ist diese Vorgehensweise auf Grund der vorübergehenden Hospitalisierung der Patienten mit erheblichem Kostenaufwand für die Versicherungsträger verbunden.
- II) Weiterführen der oralen Dauermedikation durch Vitamin K – Antagonisten und Durchführung kleiner zahnärztlich-chirurgischer Eingriffe im oberen Grenzbereich der oralen Antikoagulation (Quick-Wert von 25%-35%). Hierbei ergibt sich jedoch das Problem, daß Patienten, welche einer strengen Antikoagulation bedürfen (Quick maximal 25% bei künstlicher Herzklappe in Mitralisstellung), mit diesem Konzept nicht erreicht werden. Weiterhin hat der physiologische, perioperative Verbrauch der im Kreislauf befindlichen Restgerinnungsfaktoren eine weitere Reduzierung des endogenen Faktorangebotes zur Folge, denn unter der fortgeführten Gabe von Vitamin K-Antagonisten werden diese nur in unzureichendem Maß nachgebildet.

Hierdurch sinkt die PTT weiter und es ergeben sich postoperative Blutungskomplikationen. Die Nachblutungsfrequenz steigt z.T. auf das 10-fache.

Die optimale lokale Wundversorgung erfolgt bei beiden Konzepten gleich: Nach der Extraktion der Zähne, bzw. der Durchführung eines kleineren zahnärztlichen Eingriffes wird die Knochenwunde mit einem Kollagenvlies (z.B. Lyostypt) oder einem Gelatineschwamm (z.B. Topostatin) tamponiert. Die hiermit herbeigeführte mechanische Kompression der Knochenwunde kann eine initiale Blutstillung erzielen. Zeigt sich intraoperativ eine stärkere Blutung aus dem Zahnfach, so kann zusätzlich ein lokales Hämostyptikum auf Thrombinbasis oder Fibrinkleberpräparat in die Knochenwunde appliziert werden.

Um den fibrinolytischen Einfluß des Speichels zu reduzieren wird die Schleimhautwunde anschließend mit atraumatischen Nähten speicheldicht verschlossen. Aus dem gleichen Grund wird bei den Patienten häufig eine Wundschutzplatte aus Kunststoff eingesetzt und an den verbleibenden Zähnen befestigt.

Als Ergebnis einer eigenen prospektiven Studie der Erfinder konnten folgende Ursachen für das Auftreten postoperativer Blutungen bei zahnärztlich-chirurgischen Maßnahmen unter fortgeführter Marcumarisierung identifiziert werden (Gerhards et al., Gerhards F., Wagner W.: „Zum Blutungsrisiko nach zahnärztlich-chirurgischen Eingriffen unter fortgeführter Marcumarisierung“. Dtsch Zahnärztl Z. (1997) 52:53-56):

1. Verbrauch der im Blutkreislauf zirkulierenden restlichen Gerinnungsfaktoren und
2. deren zusätzliche Inaktivierung durch die intravenöse Gabe von Heparin (Inaktivierung des gesamten Prothrombinkomplexes).

Der vorliegenden Erfindung liegt somit die Aufgabe zugrunde eine pharmazeutische Formulierung bereitzustellen mit der es gelingt, das aktive Endprodukt der Blutgerinnungskaskade, Thrombin, über einen begrenzten Zeitraum zur Verfügung zu stellen. Als erforderliche Zeitspanne wird dabei die Phase bis zu einer stabilen intraoralen Wundheilung angesehen. Die entspricht 7 bis 10 Tage. Nach diesem Zeitraum ist eine stabile Wundheilung eingetreten, wodurch externe mechanische Einflüsse auf die Wunde keine Wirkung mehr haben können.

Um dies zu erreichen, wird Thrombin in resorbierbaren Sphären, vorzugsweise aus kommerziell erhältlichen Polymeren, die bereits für andere Medizinprodukte verwendet werden (z.B. chirurgisches Nahtmaterial), eingebettet (siehe Abbildung 1).

Unter dem Begriff „Sphären“ im Sinne der Erfindung werden Partikel, Kapseln oder Liposomen verstanden, die den Wirkstoff eingebettet, umschlossen, dispergiert oder gelöst enthalten, wie z.B. in Voigt, Pharmazeutische Technologie, Deutscher Apothekerverlag Stuttgart, 2000, Seiten 467-471 beschrieben.

Unter dem Begriff „Sphären“ (spheres) im Sinne der vorliegenden Erfindung werden insbesondere Mikro- oder Nanopartikel verstanden die einen Wirkstoff eingebettet in einer Polymermatrix ohne die Ausbildung einer gesonderten Kapselhaut enthalten

Bevorzugt sind hierbei Sphären von einer Größe von 0,1 bis 1000 μm , ganz besonders mit einer Größe von 10 bis 150 μm .

Die Beladung der Sphären kann, abhängig vom entsprechenden Thrombinpräparat, 0,1 bis 20% betragen, wobei die Beladung des Kollagenschwamms 0,1 bis 50% betragen kann. Die Gesamtdosierung sollte 1 I.E. bis 2000 I.E, bevorzugt 250 I.E. bis 1000 I.E. Thrombin pro Implantat betragen.

Die Sphären können mit Hilfe von bekannten Verfahren hergestellt werden, hierbei sind besonders Emulsionstechniken (w/o; o/w; w/o/w - Emulsions-Evaporations bzw. – Extraktions Methode) oder Sprühtrocknung zu nennen. Die Methoden sind im Stand der Technik beschrieben. So beschreibt EP 0 330 180 physiologisch aktive Substanzen enthaltende Mikrosphären des Polymilchsäuretyps sowie Verfahren zu deren Herstellung. Weitere Herstellungsverfahren sind unter anderen in Müller R.H. und Hildebrand G.E, Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1998, S. 243-258 und S339-355, Eldrige J. et al., J. Controlled Release 1990, 11, 205-214; Jeffery J. et al. Pharm. Res. 1993, 10, 362-368 und Pavanetto et al., Int. J. of Pharmaceutics 1992, 84, 152-159 offenbart.

Erfindungsgemäss verwendete resorbierbare Polymere zur Herstellung der resorbierbaren Sphären schliessen Polyzucker und deren Derivate, Polyvinylalkohol (PVA), Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polymilchsäure (PLA), Polylaktide, Polyhydroxybutyrat (PHB), Poly-L-Lysin, deren Homologe und Kokondensate, Milchsäure-Glycolsäure-Kopolymer (PLG), insbesondere Resomer RG 504 und 505 von Boehringer Ingelheim mit ein.

Weitere verwendbare Polymere sind unter anderem in in Müller R.H. und Hildebrand G.E., Pharmazeutische Technologie: Moderne Arzneiformen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1998, S. 243-258 und S339-355 offenbart.

Die so erhaltenen Sphären wiederum werden in resorbierbare Schwämme, insbesondere Kollagenschwämme inkorporiert. Dies geschieht zum Beispiel durch Gefriertrocknung eines wässrigen Kollagen oder einer wässrigen Kollagensuspension oder Gelatinelösung in welchem/r die Sphären gleichmässig dispergiert sind. Die Herstellung von Kollagenschwämmen ist z.B. in US 4,515,637, EP 562862 und von Chvapil, J. Biomed. Mater. Res. 11, 721-741(1977) beschrieben.

Kollagen

Das gemäss der vorliegenden Erfindung verwendete Kollagen sollte vorzugsweise *in vivo* durch enzymatischen Abbau oder andere biologische Prozesse auflösbar sein. Bevorzugt ist natives Kollagen in seiner potentiell löslichen Form oder natürliches unlösliches Kollagen welches inherent durch vernetzt ist und entweder in saurem oder alkalischen Medium unlöslich ist wie z.B. auch in US 4,515,637 beschrieben.

Das verwendete Kollagen ist vorzugsweise Typ 1 Kollagen.

Die Herkunft des Kollagen zur Verwendung gemäß der vorliegenden Erfindung unterliegt keiner speziellen Einschränkung. Im Allgemeinen wird Kollagen verwendet, das von Haut, Knochen, Knorpel, Sehnen, inneren Organen usw. eines Säugetiers wie z.B. von Mensch, Pferd, Rind, Schwein, Schaf, Kaninchen, Maus stammt. Es kann auch kollagenartiges Protein verwendet werden das von Vögeln, Fischen oder dergleichen stammt. Ferner kann auch gentechnisch hergestelltes Kollagen verwendet werden, an dessen gentechnischer Herstellung wird derzeit gearbeitet (z.B. ZymoGenetics, WA, U.S.A.)

Thrombin

Das erfindungsgemäss verwendete Thrombin kann aus einer Vielzahl von Quellen gewonnen werden, wie z.B. gepooltem menschlichem oder tierischen Plasma. Bovines Thrombin ist z.B. von einer Vielzahl gewerblicher Quellen erhältlich. Zudem kann erfindungsgemäss auch rekombinantes Thrombin verwendet werden (z.B. ZymoGenetics, WA, U.S.A.).

Dieses kann von einer Vielzahl von rekombinanten Quellen wie z.B. transformierten Wirtszellen (Bakterien, Hefen oder Säugerzellen) erhalten werden. Zudem können auch

thrombinartige Verbindungen wie proteolytische Schlangengifte, sowie Thrombinvorstufen wie Prothrombin als Quellen für Thrombin verwendet werden.

Daher beinhaltet der Begriff „Thrombin“ wie hier verwendet auch Thrombinvorstufen und thrombinartige Verbindungen und bezieht sich auf alle Proteine und Aminosäurepolymere natürlicher oder synthetischer Herkunft die in der Lage sind die Bildung von Fibringerinnseisen aus Fibrinogen zu katalysieren und/oder die Blutplättchen zu aktivieren. Zudem können auch andere Gerinnungsfaktoren, wie z.B. Faktor VIII verwendet werden

Diese erfindungsgemäße Formulierung hat verschiedene Vorteile da zum einen durch die Verwendung von Kollagenschwämmen zur mechanischen Wundkompression und der durch Kollagen induzierten Thrombozytenaggregation, das bestehende Therapiekonzept nur unwesentlich verändert wird und zum anderen durch das freigesetzte Thrombin die Wundheilung über einen Zeitraum von 7-10 Tagen unterstützt wird. Die durch Kollagen hervorgerufene Thrombozytenaggregation führt über die Ausschüttung von Mediatoren zu einer Aktivierung der plasmatischen Blutgerinnung.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die erfindungsgemäße Kombination des Kollagens, mit seinen thrombozytenaggregationsfördernden Eigenschaften, und einer temporären – für den Zeitraum der Wundheilung ausreichende, lokalen Freisetzung des Gerinnungsfaktors IIa (Thrombin), eine lokale Hämostase über einen längeren Zeitraum, die unabhängig von systemischen Einflüssen ist ermöglicht. Die Freisetzung erfolgt bevorzugt 0 bis 14 Tage, besonders bevorzugt 7 bis 10 Tage.

Darüberhinaus kann das Präparat durch die Beigabe weiterer, in die resorbierbaren Sphären eingearbeitete, therapieunterstützender Antifibrinolytika wie z.B. Tranexamsäure, ϵ -Amino-capronsäure, 4-(Aminomethyl)benzoesäure, Aprotinin, EPO, Acetaminonaphton, Thromboplastin, Menadionnatriumbisulfat, Adrenochrommonoaminoguanidinmethansulfonat oder Carbazochromnatriumsulfat ergänzt werden. Hiermit gelingt es zusätzliche thrombolytische Einflüsse durch das Plasminsystem und der fibrinolytischen Speichelwirkung bis zum Abschluß der Wundheilung auszugleichen. Auch können die erfindungsgemäßen Sphären weitere Wirkstoffe wie Antibiotika, Antiinfektiva oder Lokalanästhetika enthalten.

Die Freisetzung von aktivem Thrombin aus resorbierbaren Polymilchsäure-co-glycolid-sphären wurde *in-vitro* mit Hilfe eines chromogenen Substrats untersucht und nachgewiesen.

Abbildung 2 zeigt eine Freisetzungsprofil von Thrombin aus Poly (DL-Lactid-co-glycolid) 50:50 (Boehringer Ingelheim RG 504) bei 37°C in PBS-Puffer. Dargestellt ist die zeitabhängige kummulative Thrombinfreisetzung, bestimmt mittels Bradford-Test *in-vitro* gemessen über den Freisetzungszeitraum von 28 Tagen.

Abbildung 3 zeigt eine Freisetzungsprofil von Thrombin aus Poly (DL-Lactid-co-glycolid) 50:50 (Boehringer Ingelheim RG 504) bei 37°C in PBS-Puffer. Dargestellt ist die zeitabhängige kummulative Thrombinfreisetzung, die über die Abspaltung von p-Nitroanilin aus dem chromogenen Substrat, *in-vitro* gemessen über den Freisetzungszeitraum von 28 Tagen. 1 NIH Thrombin entspricht $0.324 \pm 0.073 \mu\text{g}$ Thrombin. Die freigesetzte p- Nitroanilin-Menge ist proportional zum aktiven Thrombin, das eingesetzte Thrombin hatte eine Aktivität von 50 NIH/mg.

Die vorliegende Erfindung stellt ferner die Verwendung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Formulierung als lokales Hämostyptikum bereit, insbesondere für die lokalen Hämostase bei blutgerinnungsgehemmten / blutgerinnungs-inkompetenten Patienten. Die Ursache der Blutgerinnungshemmung kann dabei iatrogen sein, d.h. aufgrund einer Hemmung der Blutgerinnung durch Gabe von Vitamin K Antagonisten, wie Phenprocoumon oder Coumadin, Thrombozytenaggregationshemmern wie Acetylsalicylsäure, Tirofiban, Dipyridamol, Ticlopidin oder Eptifibatid bedingt sein oder ist endogen bedingt wie bei Patienten mit einem angeborenen Defekt der Blutgerinnung in milder Form. Hierzu gehören z.B. Hämophile A/B, von-Willebrand-Jürgens-Syndrom und ein isolierter Faktorenmangel innerhalb des Prothrombinkomplexes.

Wie aus der Literatur bekannt und bereits oben diskutiert liegt die Häufigkeit der postoperativen Nachblutungen bei gerinnungsinkompetenten Patienten bei ca. 30% und die erforderliche Dauer der Hospitalisierung bei mehreren Tagen (im Durchschnitt bei 5 Tagen). Der klinische Einsatz der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Formulierung setzt die Nachblutungsfrequenz wesentlich herab und verkürzt dadurch die Hospitalisierungsdauer. Ferner ermöglicht sie die ambulante Durchführung bestimmter

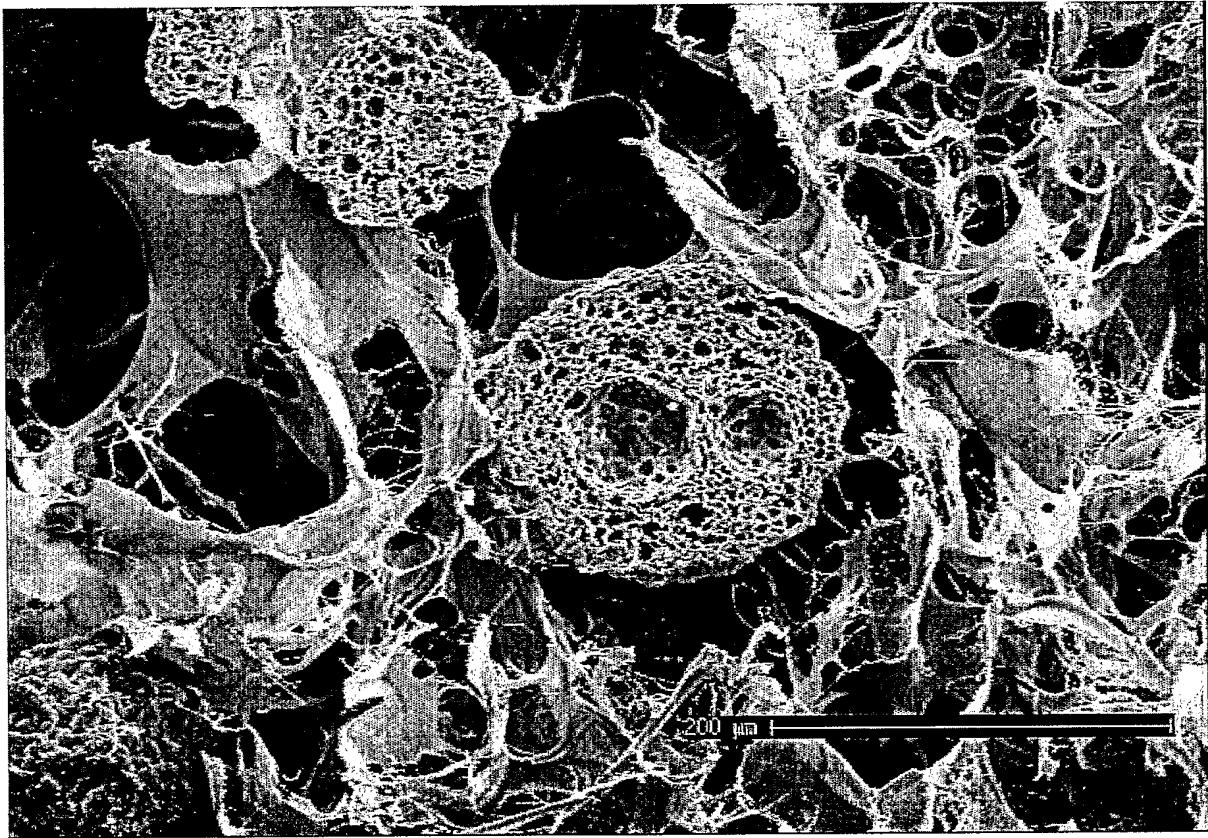
Eingriffe. Dies bedeutet neben einem deutlich verringerten Risiko für die Patienten auch eine erhebliche Kosteneinsparung im Gesundheitswesen.

Patentansprüche

1. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung zur kontinuierlichen lokalen Thrombin (Gerinnungsfaktor IIa)-Freisetzung umfassend Thrombin welches in resorbierbaren Sphären aus Polymeren eingebettet ist, wobei die Sphären in Kollagenschwämme inkorporiert sind und wobei die resorbierbaren Sphären gegebenenfalls zusätzlich ein oder mehrere Antifibrinolytika enthalten können.
2. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 1 wobei das Polymer ausgewählt ist aus Polyzuckern und ihren Derivaten, Polyvinylalkohol (PVA), Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polymethylmethacrylat (PPMA), Polyalkylcyanoacrylat (PACA), Acrylcopolymeren, Polyethylen-vinylacetat, Polyhydroxypropylcellulose, Polyorthoesters, Poly- ϵ -caprolactone, Polyaminosäuren, Polyurethane, Polyethylenglykol, Polymilchsäure (PLA), Polylaktiden, Polyhydroxybutyrat (PHB), Poly-L-Lysin und deren Homologen und Kokondensaten, Milchsäure-Glycolsäure-Kopolymer (PLG), Resomer RG 504[®] und Resomer RG 505[®].
3. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach Anspruch 1 oder 2 wobei der Durchmesser der Sphären 0,1 bis 1000 μm , bevorzugt 10 bis 150 μm beträgt.
4. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der Kollagenschwamm (Kollagen Typ 1) aus Kollagen aus humaner, boviner, swiner, equiner Quelle oder aus mittels gentechnischer Verfahren hergestelltem Kollagen hergestellt wird.
5. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei Thrombin ausgewählt ist aus boviner, swiner, equiner oder humaner Herkunft oder das Produkt einer gentechnischen Herstellungsverfahren ist.
6. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei Thrombin in einer Menge von 1 I.E. bis 2000 I.E., bevorzugt 250 I.E. bis 1000 I.E. pro Implantat vorliegt.

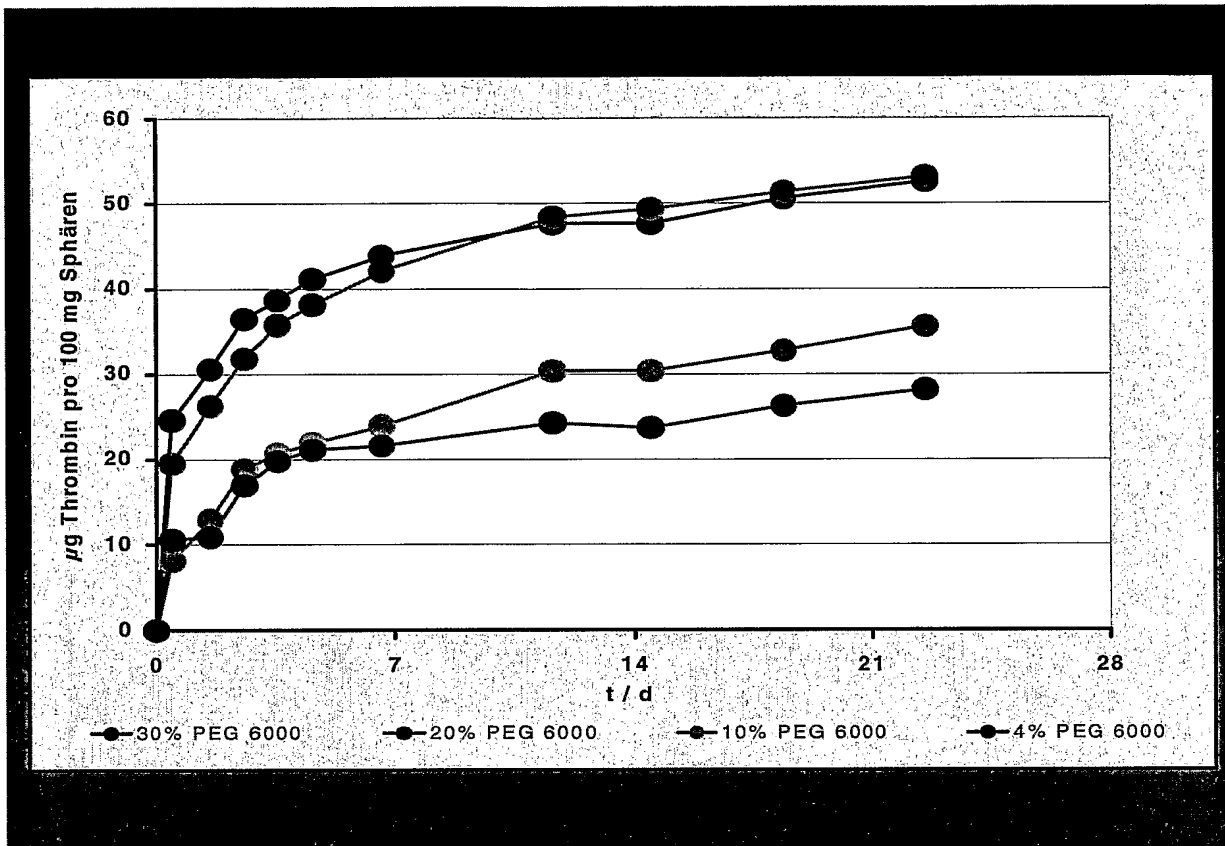
7. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei die Antifibrinolytika ausgewählt sind aus Tranexansäure, ϵ -Aminocapronsäure, 4-(Aminomethyl)benzoesäure, Aprotinin, EPO, Acetaminonaphton, Thromboplastin, Menadionnatriumbisulfat, Adrenochrommonoaminoguanidinmethansulfonat und Carbazochromnatriumsulfat.
8. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die Freisetzung über einen Zeitraum von 0 bis 14 Tagen, bevorzugt 7 bis 10 Tagen erfolgt.
9. Resorbierbare pharmazeutische Formulierung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, ferner enthaltend ein Antibiotikum, Antiinfektivum oder Lokalanästhetikum.
10. Verwendung einer Formulierung nach einem der vorangegangenen Ansprüche als Hämostyptikum.
11. Verwendung nach Anspruch 10 bei gerinnungsinkompetenten Patienten.
12. Verwendung nach Anspruch 10 oder 11, wobei die Patienten unter therapeutisch induzierter Antikoagulation stehen oder an angeborenen Defekten der Blutgerinnung der milden Form leiden.
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12 bei Patienten mit Venenthrombosen, Lungenembolie, Schlaganfall, Herzinfarkt, Vorhofflimmern, oder künstlichen Herzklappenprothesen, oder bei therapeutischer Antikoagulation auf Grund von angeborenen Protein C-, Protein S- oder Antithrombinmangel.
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 10 bis 12, bei Patienten mit Hämophilie A/B, von Willebrand-Jürgens-Syndrom oder isoliertem Faktorenmangel innerhalb des Prothrombinkomplexes.
15. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 14 bei chirurgischen oder zahnchirurgischen Eingriffen.

Abb.1



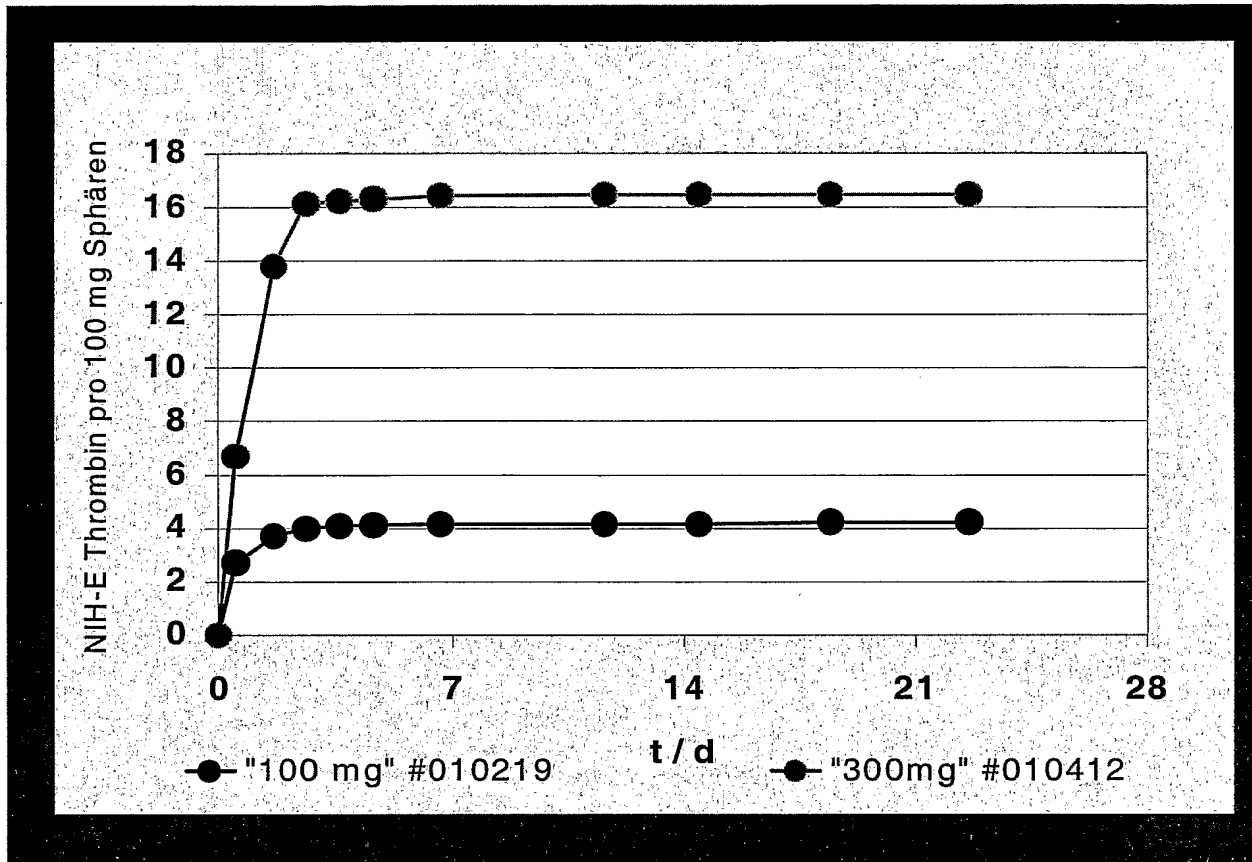
Thrombin enthaltende Mikrosphäre in Kollagenmatrix eingebettet (Prototyp)

Abb.2



Beispiel einer zeitabhängigen kumulativen Thrombinfreisetzung in μg pro 100 mg Sphären aus Polylactid-co-glycolid Mikrosphären bei 37°C in PBS.

Abb. 3



Beispiel einer zeitabhängigen kumulativen Freisetzung aktiven Thrombins pro 100 mg Sphären aus Polylactid-co-glycolid Mikrosphären bei 37°C in PBS

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter Application No
PC1/EP 03/04680

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61L15/42 A61L15/32 A61K38/48 C12N9/74

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N A61K A61L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 4 515 637 A (CIOCA GHEORGHE) 7 May 1985 (1985-05-07) cited in the application column 2, line 29 -column 4, line 2 ----	1-15
A	WO 97 37694 A (HABISON GEORG; SCHLAG GUENTHER (AT); SEELICH THOMAS (AT); SCHEEL E) 16 October 1997 (1997-10-16) page 3, paragraph 5 -page 4, paragraph 3 page 6, paragraph 3 - paragraph 4 claims 1,2,4,6,9 ----	1-15
A	EP 1 053 753 A (RESORBA CHIRURGISCHE NAHTMATE) 22 November 2000 (2000-11-22) column 2, paragraph 8 - paragraph 11 column 2, paragraph 13 - paragraph 15 -----	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 August 2003

Date of mailing of the international search report

20/08/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Heck, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internationa Application No

PCT/EP 03/04680

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 4515637	A	07-05-1985	CA 1217135 A1	27-01-1987
			EP 0145970 A2	26-06-1985
			JP 60112721 A	19-06-1985
<hr/>				
WO 9737694	A	16-10-1997	AU 726163 B2	02-11-2000
			AU 2635997 A	29-10-1997
			CA 2251475 A1	16-10-1997
			CZ 9803189 A3	15-09-1999
			WO 9737694 A1	16-10-1997
			EP 0891193 A1	20-01-1999
			HU 9903586 A2	28-03-2000
			JP 2000510357 T	15-08-2000
			NO 984619 A	03-12-1998
			RU 2193897 C2	10-12-2002
			SK 137398 A3	10-03-1999
<hr/>				
EP 1053753	A	22-11-2000	EP 1053753 A1	22-11-2000
<hr/>				

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/04680

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 A61L15/42 A61L15/32 A61K38/48 C12N9/74

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 7 C12N A61K A61L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 515 637 A (CIOCA GHEORGHE) 7. Mai 1985 (1985-05-07) in der Anmeldung erwähnt Spalte 2, Zeile 29 - Spalte 4, Zeile 2 ----	1-15
A	WO 97 37694 A (HABISON GEORG; SCHLAG GUENTHER (AT); SEELICH THOMAS (AT); SCHEEL E) 16. Oktober 1997 (1997-10-16) Seite 3, Absatz 5 - Seite 4, Absatz 3 Seite 6, Absatz 3 - Absatz 4 Ansprüche 1,2,4,6,9 ----	1-15
A	EP 1 053 753 A (RESORBA CHIRURGISCHES NAHTMATE) 22. November 2000 (2000-11-22) Spalte 2, Absatz 8 - Absatz 11 Spalte 2, Absatz 13 - Absatz 15 -----	1-15



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12. August 2003

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

20/08/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Heck, G

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/04680

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. —
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 10-15 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Zusammensetzung.

Fortsetzung von Feld I.1

Regel 39.1(iv) PCT – Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

Regel 39.1(iv) PCT – Verfahren zur chirurgischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/04680

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 4515637	A	07-05-1985	CA 1217135 A1	27-01-1987
			EP 0145970 A2	26-06-1985
			JP 60112721 A	19-06-1985
WO 9737694	A	16-10-1997	AU 726163 B2	02-11-2000
			AU 2635997 A	29-10-1997
			CA 2251475 A1	16-10-1997
			CZ 9803189 A3	15-09-1999
			WO 9737694 A1	16-10-1997
			EP 0891193 A1	20-01-1999
			HU 9903586 A2	28-03-2000
			JP 2000510357 T	15-08-2000
			NO 984619 A	03-12-1998
			RU 2193897 C2	10-12-2002
			SK 137398 A3	10-03-1999
EP 1053753	A	22-11-2000	EP 1053753 A1	22-11-2000